DOI:10.16016/j.2097-0927.202307071

WIN55212-2 通过调控 AKT/mTOR/PFKFB3 信号通路减轻脓毒症小鼠急性肾损伤

董旭鹏[1],段倩雯[1],马 源[1],刘 澈[1],龚 禹[1],马玉清[2] 730000 兰州,兰州大学:第一临床医学院[1],第一医院麻醉科[2]

[摘要] **目的** 探讨大麻素受体激动剂 WIN55212-2(WIN)对脓毒症小鼠急性肾损伤(acute kidney injury,AKI)的影响及其作用机制。**方法** 24 只雄性健康小鼠分为 4 组($n=6$):对照组(Control 组)、脓毒症组(LPS 组)、脓毒症+WIN55212-2 组(LPS+WIN 组)和脓毒症+WIN55212-2+mTOR 激活剂 MHY1485 组(LPS+WIN+MHY 组)。采用腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)的方法构建脓毒症模型,造模 24 h 后取材,ELISA 测定肾脏组织 IL-1β、IL-18 和乳酸脱氢酶 A(lactate dehydrogenase A,LDHA)的含量以及血清 Scr、肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1,KIM-1)和乳酸的含量;HE 染色观察肾脏组织病理改变并进行 Paller 评分,Western blot 检测肾脏组织 p-AKT、p-mTOR 及 6-磷酸果糖激酶-2/果糖-2,6-二磷酸酶 3(6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3,PFKFB3)的表达。**结果** 与 Control 组相比,LPS 组 HE 染色显示肾脏组织受损,Paller 评分升高($P<0.05$),血清乳酸、Scr、KIM-1 含量升高($P<0.05$),肾脏组织 LDHA、IL-1β、IL-18 含量上调($P<0.05$),肾脏组织 p-AKT、p-mTOR、PFKFB3 表达增加($P<0.05$)。与 LPS 组相比,LPS+WIN 组肾脏组织病理损伤减轻,Paller 评分降低($P<0.05$),乳酸、Scr、KIM-1 的含量降低($P<0.05$),LDHA、IL-1β、IL-18 含量下调($P<0.05$),p-AKT、p-mTOR、PFKFB3 表达减少($P<0.05$)。与 LPS+WIN 组相比,LPS+WIN+MHY 组 Paller 评分升高($P<0.05$),乳酸、Scr、KIM-1 的含量升高($P<0.05$),LDHA、IL-1β、IL-18 含量上调($P<0.05$),p-AKT、p-mTOR、PFKFB3 表达增加($P<0.05$)。**结论** WIN 可以减轻脓毒症 AKI,其机制可能是通过抑制 AKT/mTOR/PFKFB3 信号通路,降低肾脏组织糖酵解水平,减轻炎症反应。

[关键词] 脓毒症;急性肾损伤;有氧糖酵解;AKT/mTOR

[中图法分类号] R631.2;R692;R977.9 [文献标志码] A

WIN55212-2 alleviates acute kidney injury in septic mice by regulating the AKT/mTOR/PFKFB3 signaling pathway

DONG Xupeng[1], DUAN Qianwen[1], MA Yuan[1], LIU Che[1], GONG Yu[1], MA Yuqing[2] [1]The First Clinical Medical College, [2]Department of Anesthesiology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu Province, 730000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of cannabinoid receptor agonist, WIN55212-2 (WIN), on acute kidney injury (AKI) in mice with sepsis and its underlying mechanism. **Methods** Twenty-four healthy male mice were divided into ($n=6$): Control group, sepsis group (LPS group), sepsis+WIN55212-2 group (LPS+WIN group) and sepsis+WIN55212-2+mTOR activator MHY1485 group (LPS+WIN+MHY group). The sepsis model was constructed by intraperitoneal injection of LPS. After the tissue and blood samples were harvested in 24 h after modeling, ELISA was used to determine the contents of IL-1β, IL-18 and lactate dehydrogenase A (LDHA) in the renal tissues, as well as Scr, kidney injury molecule-1

[基金项目] 甘肃省自然科学基金(21JRIRA077)

[通信作者] 马玉清,E-mail:myq2392466@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

(KIM-1) and lactic acid (LA) in the serum. HE staining was employed to observe the pathological changes of kidney tissue and Paller score was calculated. The expression of p-AKT, p-mTOR and 6-phosphofructokinase-2/fructose-2, 6-biphosphatase 3 (PFKFB3) in the renal tissues was detected by Western blotting. **Results** Compared with the Control group, the LPS group had obvious kidney tissue damage, increased Paller score ($P<0.05$), increased serum contents of lactic acid, Scr and KIM-1 ($P<0.05$), up-regulated contents of LDHA, IL-1β and IL-18 in the renal tissues ($P<0.05$), and elevated expression levels of p-AKT, p-mTOR and PFKFB3 in the renal tissues ($P<0.05$). Milder pathological injury in kidney tissue, decreased Paller score ($P<0.05$), reduced contents of lactic acid, Scr and KIM-1 ($P<0.05$), decreased contents of LDHA, IL-1β and IL-18 ($P<0.05$), and lower expression of p-AKT, p-mTOR and PFKFB3 were observed in the LPS+WIN group than the LPS group ($P<0.05$). The LPS+WIN+MHY group had notably higher Paller score ($P<0.05$), raised contents of lactic acid, Scr and KIM-1 ($P<0.05$), increased contents of LDHA, IL-1β and IL-18 ($P<0.05$), and up-regulated expression of p-AKT, p-mTOR and PFKFB3 ($P<0.05$) when compared with the LPS+WIN group. **Conclusion** WIN can alleviate AKI in sepsis, and it may reduce the level of glycolysis in renal tissue, and alleviate inflammation through inhibiting AKT/mTOR/PFKFB3 signaling pathway.

[**Key words**] sepsis; acute kidney injury; aerobic glycolysis; AKT/mTOR

Supported by the Natural Science Foundation of Gansu Province (21JRIRA077). Corresponding author: MA Yuqing, E-mail: myq2392466@163.com

脓毒症是宿主对感染的反应异常导致危及生命的器官功能障碍[1]。急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是脓毒症的一种常见的并发症,也是进展为慢性肾脏疾病的一个危险因素[2]。脓毒症 AKI 的全球发病率约为每年 1 100 万例[3]。高达 60%的脓毒症患者在 ICU 中发现脓毒症 AKI[4],而且临床上被诊断为脓毒症 AKI 的患者往往存在更高的死亡风险[5]。

炎症反应是宿主抵抗感染的主要防御机制,但炎症失衡可导致组织和器官的进一步损伤,这也是脓毒症主要的发病机制[6]。最新研究表明,有氧糖酵解在宿主防御感染的免疫反应中发挥核心作用,是炎症性疾病的一个新靶点[7]。脓毒症时,小鼠肾脏组织代谢可转变为有氧糖酵解,使糖酵解水平和糖酵解途径多种关键酶水平增加,抑制有氧糖酵解可以减轻脓毒症 AKI,提高脓毒症小鼠存活率[8]。但其具体机制目前报道较少,需要进一步研究来明确。

越来越多的证据表明 PI3K-AKT-mTOR 信号通路激活参与调控细胞有氧糖酵解[9-10],HU 等[11]发现 LPS 可通过激活肺成纤维细胞 PI3K-AKT-mTOR 信号通路,上调 6-磷酸果糖激酶-2/果糖-2,6-二磷酸酶 3(6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-biphosphatase 3, PFKFB3),加速有氧糖酵解,促进肺成纤维细胞的胶原合成。

WIN55212-2 (WIN)是一种具有抗炎特性的大麻素受体激动剂,研究表明 WIN 可减轻 LPS 诱导的人内皮细胞的炎症激活[12]。尚有研究发现 WIN 可通过 miR-29b-3p/FOXO3/PFKFB3 信号轴抑制糖酵解,减轻 LPS 诱导的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)[13]。而 WIN 能否通过抑制有氧糖酵解减轻脓毒症 AKI 及其与 AKT/mTOR/PFKFB3 信号通路之间的关系,尚有待探明。因此,本研究采用腹腔注射 LPS 制备小鼠脓毒症 AKI 模型,探讨 WIN 是否可以通过调控 AKT/mTOR/PFKFB3 信号通路活性,抑制有氧糖酵解,减轻脓毒症小鼠 AKI。

1 材料与方法

1.1 实验动物与主要试剂

SPF 级别 6~8 周雄性健康 C57BL/6 小鼠,体质量 20~25 g,购自兰州大学实验动物中心[动物许可证号:SCXK(甘)2018-0002]。小鼠正常进食,人工光照和黑暗时间 12 h 交替,适应性饲养 1 周后开始实验。LPS 购自美国 Sigma 公司;mTOR 激活剂 MHY1485 购自美国 MCE 公司;WIN55212-2 购自 Cayman 公司;抗 p-AKT、抗 p-mTOR 抗体均购于博奥森公司;抗 PFKFB3 抗体购于 Abcam 公司;IL-18、IL-1β、Scr、KIM-1、LDHA、乳酸酶联免疫吸附(ELISA)测定试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司。实验过程中动物处理措施符合伦理学要求,已获兰州大学第一医院伦理委员会批准(LDYYLL2023-320)。

1.2 实验分组与处理

24 只小鼠按照随机数字表法分为 4 组($n=6$):①对照组(Control 组);②脓毒症组(LPS 组),腹腔注射

LPS(10 mg/kg)[14];③脓毒症+WIN55212-2 组(LPS+WIN 组),LPS 处理前 30 min 腹腔注射 WIN 1 mg/kg[13];④脓毒症+WIN55212-2+MHY 组(LPS+WIN+MHY 组),LPS 处理前 1 d 腹腔注射 MHY1485 10 mg/kg[15],LPS 处理前 30 min 腹腔注射 MHY1485 10 mg/kg 和 WIN 1 mg/kg。Control 组和 LPS 组于上述相同时间腹腔注射等量二甲基亚砜。

1.3 标本采集

造模后 24 h,戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔注射麻醉小鼠后,将其仰卧于固定板上;剪去心前区毛发并消毒,以食指指腹定位小鼠心脏搏动区;手持 1 mL 注射器穿刺心搏最强处,收集足量血液标本。静置 30 min 后以 3 000 r/min,离心 15 min,取上清液于-80 ℃冰箱保存。心脏取血后安乐死小鼠。常规剪去毛发、消毒,暴露腹腔;取小鼠双侧肾脏组织,PBS 冲洗;将一侧肾脏组织固定于 4%多聚甲醛溶液(用于病理学观察);将另一侧肾脏组织于-80 ℃冰箱储存(用于后续实验)。

1.4 HE 染色

取肾脏组织后,置于 4%多聚甲醛中固定 48 h,脱水后石蜡包埋、切片、HE 染色,显微镜下观察肾脏组织病理结构改变。采用 Paller 氏评分[16]评估肾小管损伤程度,即在 200 倍高倍镜下取 10 个高倍镜视野合计 100 个肾小管。肾小管明显扩张、细胞扁平(1 分);肾小管内出现管型(2 分);肾小管管腔内有脱落、坏死细胞,但未成管型或细胞碎片(1 分);上皮细胞颗粒变性(1 分);空泡变性(1 分);细胞核固缩(1 分)。

1.5 ELISA 检测

肾脏组织称质量,按照 1 g 组织加入 5 mL PBS 的比例加入 PBS,在冰水浴中尽量剪碎组织,随后按照每 20 mg 肾脏组织中加入 150~200 μL 的 RIPA 裂解液的比例加入裂解液,在冰上使用匀浆机制备成 10%肺组织匀浆。将制备好的 10%匀浆使用离心机 4 ℃,3 000×*g* 离心 10 min,离心后的匀浆取上清液进行分装,-80 ℃放置保存。按照 ELISA 试剂盒说明书检测肾脏组织匀浆炎症因子 IL-1β、IL-18 水平以及 LDHA 的含量。

取出-80 ℃储存的血清,逐级解冻后作为待测样品。按照 ELISA 试剂盒说明书进行检测。使用酶标仪测定各孔光密度值[*D*(450)]。Excel 绘制标准曲线,计算各样本血清 Scr、KIM-1 和乳酸的含量。

1.6 Western blot 检测

取-80 ℃肾脏组织匀浆,蛋白定量,经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 2 h,电转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,洗膜后加入 p-AKT、p-mTOR、PFKFB3 一抗和 β-actin 内参蛋白 4 ℃孵育过夜。次日洗膜,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗(稀释度均为 1∶100 000)37 ℃摇床孵育 2 h,含吐温-20 的 Tris-HCl 缓冲盐溶液(TBST)充分洗膜。电化学发光法显色曝光,采集图像,用 Image J 软件分析各组条带灰度值,以目标蛋白与内参蛋白的灰度值比值反映目标蛋白相对表达量。

1.7 统计学分析

采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行数据分析。实验数据均为计量资料且符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,2 组间比较采用 LSD-*t* 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般状态

LPS 造模后 24 h,Control 组小鼠精神状态、饮食、活动、呼吸频率及对刺激的反应较造模之前无明显改变;LPS 组小鼠出现发热,心率、呼吸频率明显加快,口鼻腔分泌物增多,精神萎靡,嗜睡,蜷缩,竖毛,少动,拒食或少食,眼角出现分泌物;LPS+WIN 组上述表现较 LPS 组轻微,LPS+WIN+MHY 组上述表现较 LPS+WIN 组明显加重。

2.2 各组小鼠肾脏组织病理结构改变

光镜下 Control 组为正常肾脏组织,肾脏结构完整,无出血和炎症浸润;LPS 组肾小管上皮细胞水肿,细胞体积变大,肾小球结构紊乱,肾小管管腔变窄,间质内有明显出血及大量炎症细胞浸润;LPS+WIN 组病理改变明显减轻,肾脏结构较完整,间质仅有少量出血及炎症细胞浸润;LPS+WIN+MHY 组病理改变较 LPS+WIN 组加重,肾脏组织结构破坏,间质内出血及炎症细胞浸润增多,见图 1。

与 Control 组相比,LPS 组 Paller 评分明显增高($P<0.05$);与 LPS 组相比,LPS+WIN 组在 WIN 预处理后 Paller 评分明显下降($P<0.05$);相较于 LPS+WIN 组,LPS+WIN+MHY 组 Paller 评分升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 2。

2.3 各组小鼠肾脏组织 IL-1β、IL-18 和糖酵解关键酶 LDHA 含量

ELISA 检测结果显示:与 Control 组相比,LPS 组中 IL-1β、IL-18、LDHA 含量显著升高($P<0.05$);与 LPS 组相比,LPS+WIN 组在 WIN 预处理后 IL-1β、IL-18、LDHA 含量相对下降($P<0.05$);与 LPS+WIN 组相比,LPS+WIN+MHY 组 IL-1β、IL-18、LDHA 含量增高,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

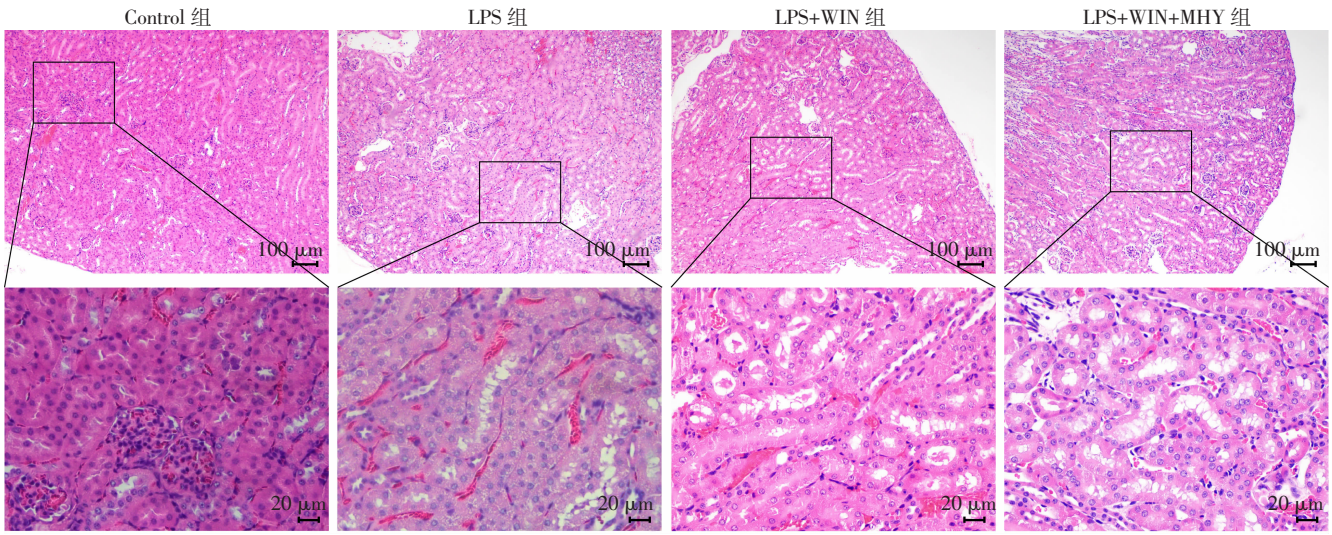
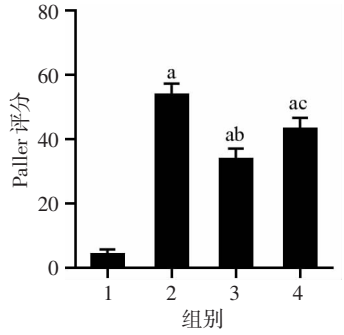


图 1 HE 染色观察各组小鼠肾脏组织病理变化



1:Control 组;2:LPS 组;3:LPS+WIN 组;4:LPS+WIN+MHY 组;a:$P<0.05$,与 Control 组比较;b:$P<0.05$,与 LPS 组比较;c:$P<0.05$,与 LPS+WIN 组比较

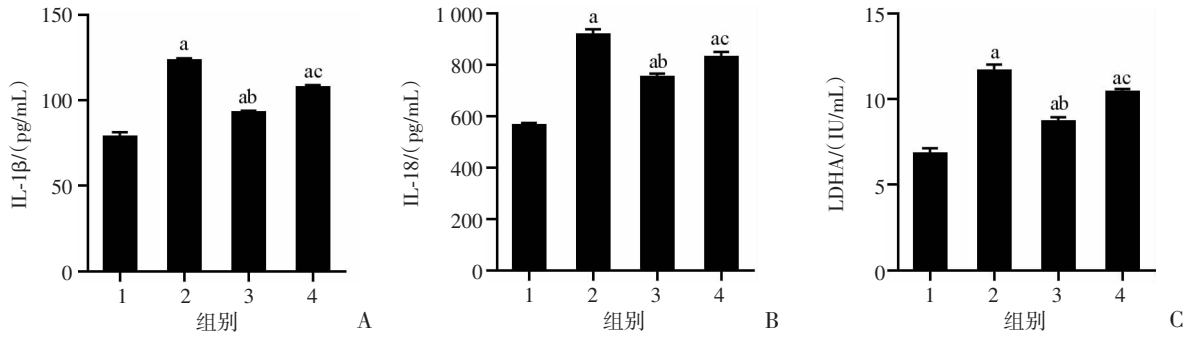
图 2 各组小鼠肾脏 Paller 评分 ($n=6,\bar{x}\pm s$)

2.4 各组小鼠血清肾损伤标志物 Scr、KIM-1 和糖酵解产物乳酸含量

ELISA 检测结果显示:与 Control 组相比,LPS 组 Scr、KIM-1、乳酸含量明显增加($P<0.05$);与 LPS 组相比,LPS+WIN 组 Scr、KIM-1、乳酸含量相对下降($P<0.05$);与 LPS+WIN 组相比,LPS+WIN+MHY 组 Scr、KIM-1、乳酸含量增高,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 4。

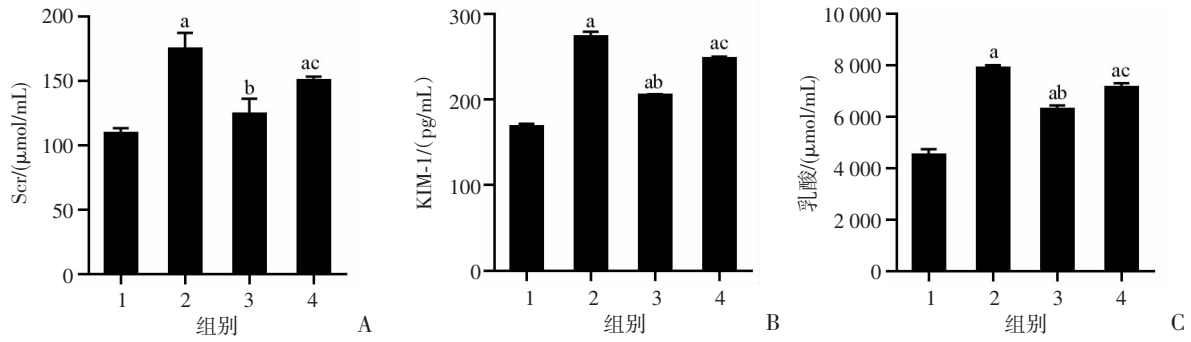
2.5 各组小鼠肾脏组织 p-AKT、p-mTOR 及 PFKFB3 蛋白表达水平

Western blot 检测结果显示:与 Control 组相比,LPS 组 p-AKT、p-mTOR 及 PFKFB3 表达显著升高($P<0.05$);与 LPS 组相比,LPS+WIN 组 p-AKT、p-mTOR 及 PFKFB3 表达相对下降($P<0.05$);相较于 LPS+WIN 组,LPS+WIN+MHY 组 p-AKT、p-mTOR 及 PFKFB3 表达增高,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 5。



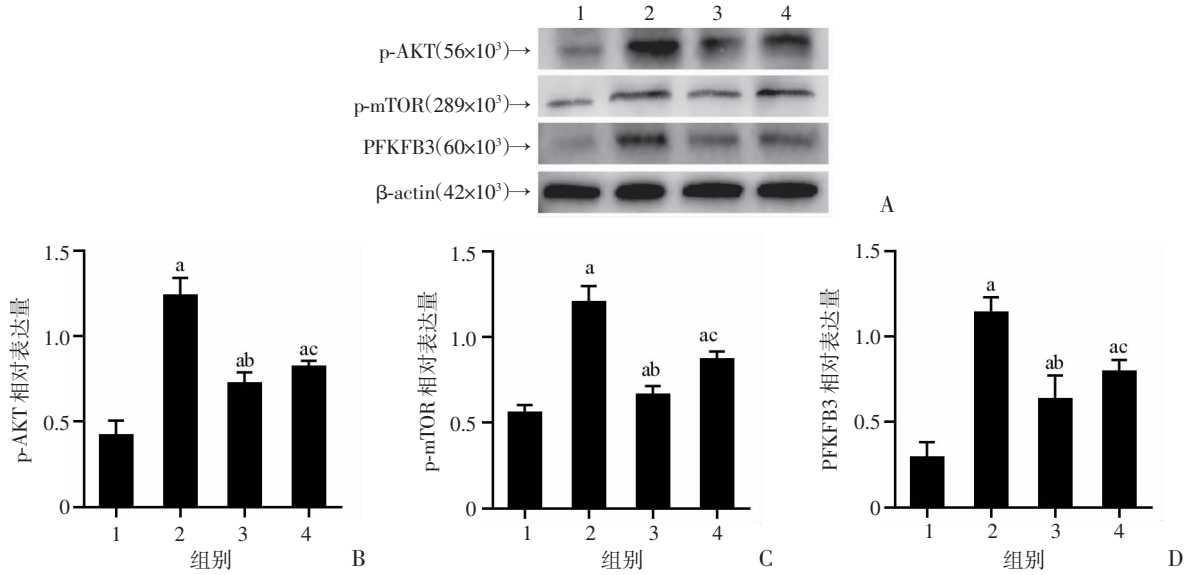
1:Control 组;2:LPS 组;3:LPS+WIN 组;4:LPS+WIN+MHY 组;a:$P<0.05$,与 Control 组比较;b:$P<0.05$,与 LPS 组比较;c:$P<0.05$,与 LPS+WIN 组比较

图 3 ELISA 法检测各组小鼠肾脏组织 IL-1β(A)、IL-18(B)和 LDHA(C)的含量 ($n=6,\bar{x}\pm s$)



1:Control 组;2:LPS 组;3:LPS+WIN 组;4:LPS+WIN+MHY 组;a:$P<0.05$,与 Control 组比较;b:$P<0.05$,与 LPS 组比较;c:$P<0.05$,与 LPS+WIN 组比较

图 4 ELISA 法检测各组小鼠血清 Scr(A)、KIM-1(B)和乳酸(C)的含量 ($n=6,\bar{x}\pm s$)



1:Control 组;2:LPS 组;3:LPS+WIN 组;4:LPS+WIN+MHY 组;a:$P<0.05$,与 Control 组比较;b:$P<0.05$,与 LPS 组比较;c:$P<0.05$,与 LPS+WIN 组比较

A:Western blot 检测肾脏组织 p-AKT、p-mTOR 及 PFKFB3 蛋白表达水平;B:p-AKT 蛋白相对表达量;C:p-mTOR 蛋白相对表达量;D:PFKFB3 蛋白相对表达量

图 5 Western blot 检测各组小鼠肾脏组织 p-AKT、p-mTOR 及 PFKFB3 蛋白表达水平 ($n=6,\bar{x}\pm s$)

3 讨论

本研究采用腹腔注射 LPS 的方法制备脓毒症小鼠模型。LPS 组小鼠造模后 24 h,出现发热,心率、呼吸频率明显加快,口鼻腔分泌物增多,精神萎靡,嗜睡,蜷缩,竖毛,少动,拒食或少食等症状,小鼠肾功能明显下降,肾脏病理损伤加重,炎症因子 IL-18、IL-1β 水平显著升高,证实 LPS 脓毒症模型成功。

WIN 作为大麻素受体 1 和 2 的强效激动剂,在细胞和动物模型中发挥广泛的抗炎作用[17]。本研究发现,LPS+WIN 组肾脏结构破坏,间质内出血及炎症因子浸润等病理改变减轻,炎症因子 IL-1β、IL-18 含量降低,血清肾损伤标志物 Scr、KIM-1 的含量也明显下降,说明 WIN 可减轻脓毒症 AKI 中的炎症反应。PÉREZ-DIEGO 等[18]研究也证实,WIN 可降低脓毒症小鼠血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 等炎症因子水平;FIELDS 等[19]研究同样表明,在人类星形胶质细胞中,WIN 预先给药可以显著抑制 IL-1β 诱导的炎症反应。

IL-18 作为 IL-1 超家族的一员,是急性肾损伤的重要介质,可在一定程度上反映肾损伤的水平[20]。KIM-1 在急性肾损伤后早期释放,已被广泛用作 AKI 早期诊断标志物[21]。因此本实验选择肾组织 IL-18 以及血清 KIM-1、Scr 用以评估脓毒症 AKI 小鼠肾功能。

在脓毒症期间,细胞能量代谢从氧化磷酸化转变为糖酵解,这种现象被称为代谢重编程[22]。脓毒症期间有氧糖酵解可以激活炎症小体,释放 IL-1β、IL-18 和

高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)等促炎因子,而限制糖酵解途径可降低脓毒症早期炎症因子的释放,减轻炎症反应[23-24]。LDHA 作为糖酵解途径最后一步的关键酶,可催化丙酮酸生成乳酸,而负责乳酸的形成使 LDHA 成为有氧糖酵解的关键参与者[25]。果糖-2, 6-二磷酸(fructose-2, 6-bisphosphate,F-2,6-BP)是糖酵解限速酶磷酸果糖激酶-1(phosphofructokinase- 1,PFK-1)的强效变构激活剂,PFKFB3 可通过调节 F-2,6-BP 合成从而在有氧糖酵解中起关键作用[26]。本实验观察到,LPS 组 LDHA 和 PFKFB3 表达上调,糖酵解终产物血清乳酸生成增加,且伴随着 IL-1β、IL-18 水平升高,肾脏病理损伤加重,而 WIN 预处理糖酵解水平下降,炎症因子含量降低,血清 Scr、KIM-1 也随之下降,肾损伤有所减轻,表明 WIN 可通过下调糖酵解水平,抑制炎症反应,减轻脓毒症 AKI。LUO 等[27]研究表明,靶向抑制糖酵解,可降低 IL-1β 等炎症因子的激活与释放,减轻脓毒症小鼠肝、肾损伤,提高小鼠存活率,这与本实验结果相一致。HE 等[13]经体内、体外实验证实,WIN 预处理抑制糖酵解,降低肺泡巨噬细胞向促炎的 M1 表型极化,减少炎症因子释放,减轻脓毒症 ALI。

为了阐明其保护机制,本研究在 WIN 基础上使用 mTOR 激活剂 MHY1485 干预小鼠,MHY1485 可通过靶向 mTOR 的 ATP 结构域,调节该通路活性[28]。结果发现,MHY1485 可拮抗 WIN 对有氧糖酵解的抑制作用,肾脏糖酵解水平重新升高,炎症因子含量升高,肾脏病理损伤加重,p-AKT、p-mTOR 及 PFKFB3 的表达较 LPS+WIN 组明显升高。因此我们推测 WIN 可能通过抑制 AKT/mTOR/PFKFB3 信号通路激活,下调糖酵解水平,减轻肾脏组织炎症反应。既往研究表明 AKT-mTOR 信号通路可通过调控下游效应分子,调节细胞生长、增殖和有氧糖酵解[29]。AKT 的激活可以动员葡萄糖转运蛋白(glucose transporter, GLUT),激活己糖激酶 2(hexokinase2,HK2),从而增强有氧糖酵解和促进癌细胞生长[30]。mTOR 可上调 PFKFB3 的表达加速糖酵解速率[31]。这些研究结果与本实验高度一致。最新研究也发现,WIN 能够抑制 LPS 诱导的 AKT 和 p70S6K(mTOR 的主要下游作用靶点)的磷酸化,表明 WIN 可以抑制 LPS 诱导的人单核细胞来源的树突状细胞 mTOR 的活化,从而通过激活自噬抑制代谢重编程,促进调节性 T 细胞的产生,保护小鼠抵抗 LPS 诱导的脓毒症[32]。

本研究也存在一定局限性,实验仅在动物模型观察 WIN 在脓毒症 AKI 中的作用,未在细胞水平进一步验证。WIN 也可能通过其他信号通路发挥脓毒症保护作用,还需进一步研究。

综上所述,WIN55212-2 可以减轻脓毒症 AKI,其机制可能是通过抑制 AKT/mTOR/PFKFB3 信号通路,降低肾脏糖酵解水平,减轻炎症反应。

参考文献:

[1] FERNANDO S M, ROCHWERG B, SEELY A J E. Clinical implications of the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. CMAJ, 2018, 190(36): E1058-E1059. DOI: 10.1503/cmaj.170149.

[2] KUWABARA S, GOGGINS E, OKUSA M D. The pathophysiology of sepsis-associated AKI[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2022, 17(7): 1050-1069. DOI: 10.2215/CJN.00850122.

[3] MANRIQUE-CABALLERO C L, DEL RIO-PERTUZ G, GOMEZ H. Sepsis-associated acute kidney injury[J]. Crit Care Clin, 2021, 37(2): 279-301. DOI: 10.1016/j.ccc.2020.11.010.

[4] POSTON J T, KOYNER J L. Sepsis associated acute kidney injury[J]. BMJ, 2019: k4891. DOI: 10.1136/bmj.k4891.

[5] KALANTARI K, ROSNER M H. Recent advances in the pharmacological management of sepsis-associated acute kidney injury[J]. Expert Rev Clin Pharmacol, 2021, 14(11): 1401-1411. DOI: 10.1080/17512433.2021.1978287.

[6] SINGBARTL K, FORMECK C L, KELLUM J A. Kidney-immune system crosstalk in AKI[J]. Semin Nephrol, 2019, 39(1): 96-106. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2018.10.007.

[7] SUN L Z, YANG X F, YUAN Z Y, *et al*. Metabolic reprogramming in immune response and tissue inflammation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(9): 1990-2001. DOI: 10.1161/atvbaha.120.314037.

[8] TAN C Y, GU J, LI T, *et al*. Inhibition of aerobic glycolysis alleviates sepsis-induced acute kidney injury by promoting lactate/Sirtuin 3/AMPK-regulated autophagy[J]. Int J Mol Med, 2021, 47(3): 19. DOI: 10.3892/ijmm.2021.4852.

[9] LIAO S, LIANG L, YUE C X, *et al*. CD38 is involved in cell energy metabolism *via* activating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in cervical cancer cells[J]. Int J Oncol, 2020, 57(1): 338-354. DOI: 10.3892/ijo.2020.5040.

[10] ZHANG T, ZHANG Y G, YANG Z H, *et al*. *Echinococcus multilocularis* protoscoleces enhance glycolysis to promote M2 macrophages through PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Pathog Glob Health, 2023, 117(4): 409-416. DOI: 10.1080/20477724.2022.2104055.

[11] HU X T, XU Q Y, WAN H X, *et al*. PI3K-Akt-mTOR/$PFKFB_3$ pathway mediated lung fibroblast aerobic glycolysis and collagen synthesis in lipopolysaccharide-induced pulmonary fibrosis[J]. Lab Invest, 2020, 100(6): 801-811. DOI: 10.1038/s41374-020-0404-9.

[12] WILHELMSEN K, KHAKPOUR S, TRAN A, *et al*. The endocannabinoid/endovanilloid N-arachidonoyl dopamine (NADA) and synthetic cannabinoid WIN55, 212-2 abate the inflammatory activation of human endothelial cells[J]. J Biol Chem, 2014, 289(19): 13079-13100. DOI: 10.1074/jbc.M113.536953.

[13] HE Q A, YIN J, ZOU B S, *et al*. WIN55212-2 alleviates acute lung injury by inhibiting macrophage glycolysis through the miR-29b-3p/FOXO3/PFKFB$_3$ axis[J]. Mol Immunol, 2022, 149: 119-128. DOI: 10.1016/j.molimm.2022.06.005.

[14] LIU L Q, YAN M J, YANGR, *et al*. Adiponectin attenuates lipopolysaccharide-induced apoptosis by regulating the Cx43/PI3K/AKT pathway[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 644225. DOI: 10.3389/fphar.2021.644225.

[15] ZHOU J L, YAO W, LI C Y, *et al*. Administration of follicle-stimulating hormone induces autophagy *via* upregulation of HIF-1α in mouse granulosa cells[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(8): e3001. DOI: 10.1038/cddis.2017.371.

[16] PALLER M S, HOIDAL J R, FERRIS T F. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat[J]. J Clin Invest, 1984, 74(4): 1156-1164. DOI: 10.1172/JCI111524.

[17] SU S H, WU Y F, LIN Q, *et al*. Cannabinoid receptor agonist WIN55, 212-2 and fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 ameliorate neuroinflammatory responses in chronic cerebral hypoperfusion model by blocking NF-κB pathways[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2017, 390(12): 1189-1200. DOI: 10.1007/s00210-017-1417-9.

[18] PÉREZ-DIEGO M, ANGELINA A, MARTÍN-CRUZ L, *et al*. Cannabinoid WIN55, 212-2 reprograms monocytes and macrophages to inhibit LPS-induced inflammation[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1147520. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1147520.

[19] FIELDS J A, SWINTON M K, MONTILLA-PEREZ P, *et al*. The cannabinoid receptor agonist, WIN-55212-2, suppresses the activation of proinflammatory genes induced by interleukin 1 beta in human astrocytes[J]. Cannabis Cannabinoid Res, 2022, 7(1): 78-92. DOI: 10.1089/can.2020.0128.

[20] MOLEDINA D G, PARIKH C R. Phenotyping of acute kidney injury: beyond serum creatinine[J]. Semin Nephrol, 2018, 38(1): 3-11. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2017.09.002.

[21] DIAO H Y, ZHU W, LIU J, *et al*. Salvianolic acid A improves rat kidney injury by regulating MAPKs and TGF-β1/smads signaling pathways[J]. Molecules, 2023, 28(8): 3630. DOI: 10.3390/molecules28083630.

[22] ZHENG Z B, MA H, ZHANG X, *et al*. Enhanced glycolytic metabolism contributes to cardiac dysfunction in polymicrobial *Sepsis*[J]. J Infect Dis, 2017, 215(9): 1396-1406. DOI: 10.1093/infdis/jix138.

[23] LIU W Z, LIU T Y, ZHENG Y J, *et al*. Metabolic reprogramming and its regulatory mechanism in sepsis-mediated inflammation[J]. J Inflamm Res, 2023, 16: 1195-1207. DOI: 10.2147/JIR.S403778.

[24] WANG L, WANG D G, ZHANG T L, *et al*. The role of immunometabolism in macrophage polarization and its impact on acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1117548. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1117548.

[25] POUYSSÉGUR J, MARCHIQ I, PARKS S K, *et al*. 'Warburg effect' controls tumor growth, bacterial, viral infections and immunity—Genetic deconstruction and therapeutic perspectives[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 86(Pt 2): 334-346. DOI: 10.1016/j.semcancer.2022.07.004.

[26] BAO Y F, ZHOU L, DAI D Q, *et al*. Discover potential inhibitors for PFKFB$_3$ using 3D-QSAR, virtual screening, molecular docking and molecular dynamics simulation[J]. J Recept Signal Transduct, 2018, 38(5/6): 413-431. DOI: 10.1080/10799893.2018.1564150.

[27] LUO P, ZHANG Q, ZHONG T Y, *et al*. Celastrol mitigates inflammation in sepsis by inhibiting the PKM2-dependent Warburg effect[J]. Mil Med Res, 2022, 9(1): 22. DOI: 10.1186/s40779-022-00381-4.

[28] CAI Y, GAO Q, MENG J H, *et al*. Puerarin suppresses glycolysis and increases cisplatin chemosensitivity in oral squamous cell carcinoma *via* FBXW7/mTOR signaling[J]. Nutr Cancer, 2023, 75(3): 1028-1037. DOI: 10.1080/01635581.2023.2168023.

[29] CHOU W C, RAMPANELLI E, LI X, *et al*. Impact of intracellular innate immune receptors on immunometabolism[J]. Cell Mol Immunol, 2022, 19(3): 337-351. DOI: 10.1038/s41423-021-00780-y.

[30] ABDEL-WAHAB A F, MAHMOUD W, AL-HARIZY R M. Targeting glucose metabolism to suppress cancer progression: prospective of anti-glycolytic cancer therapy[J]. Pharmacol Res, 2019, 150: 104511. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104511.

[31] FENG Y H, WU L S. mTOR up-regulation of PFKFB$_3$ is essential for acute myeloid leukemia cell survival[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 483(2): 897-903. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.01.031.

[32] ANGELINA A, PÉREZ-DIEGO M, LÓPEZ-ABENTE J, *et al*. Cannabinoids induce functional Tregs by promoting tolerogenic DCs *via* autophagy and metabolic reprograming[J]. Mucosal Immunol, 2022, 15(1): 96-108. DOI: 10.1038/s41385-021-00455-x.

(**收稿**:2023-07-17;**修回**:2023-09-25)

(编辑 张艺霖)